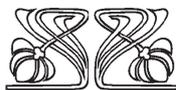
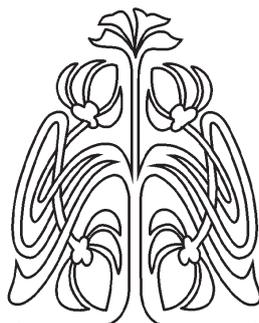
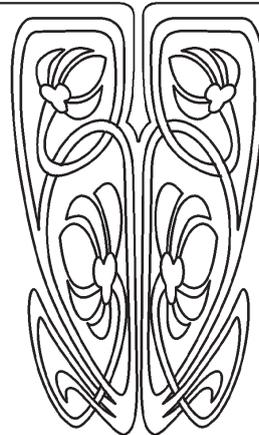




ХИМИЯ



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 4. С. 370–381
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2023, vol. 23, iss. 4, pp. 370–381
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-4-370-381>
EDN: FASKKF

Научная статья
УДК 543.645: 543.544.943.3

Сравнение двух типов подвижных фаз для определения витаминов группы В методом тонкослойной хроматографии

А. А. Кутина, Е. Г. Сумина , В. З. Углонова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Кутина Ангелина Александровна, студент Института химии, kutina2000@mail.ru

Сумина Елена Германовна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, suminaeg@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7310-9459>

Углонова Варсения Загидовна, кандидат химических наук, доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности Института химии, uglanovavz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6638-4508>

Аннотация. Методом тонкослойной хроматографии изучено влияние ряда факторов (природы неподвижной фазы, природы и концентрации органических растворителей и поверхностно-активных веществ, pH буферного раствора) на хроматографические характеристики витаминов группы В: В₁ (тиамин), В₆ (пиридоксин), В₁₂ (цианокобаламин). В качестве неподвижных фаз использовали пластины с полярным (Сорбфил на полимерной (высокоэффективные пластины, высокопроизводительная тонкослойная хроматография) и алюминиевой подложках), слабополярным (Полиамид-6) и неполярным (RP-18 на алюминиевой подложке) сорбентами. В качестве мицеллярных подвижных фаз – мицеллярные растворы хлорида цетилпиридиния в интервале концентраций $5 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-1}$ М, додецилсульфата натрия в интервале концентраций $2,5 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-1}$ М. Установлено, что среди водно-органических подвижных фаз лучшие результаты получены для подвижной фазы состава ацетонитрил – вода (15:85) на полярных высокоэффективных пластинах. Более эффективной является подвижная фаза состава ацетонитрил – цетилпиридиний хлорид (15:85) в присутствии фосфатного буферного раствора с рН 3. Для последней подвижной фазы разработано ТСХ-определение витаминов В₁, В₆, В₁₂ в фармацевтических препаратах со значением S_r 0,01 – 0,06.

Ключевые слова: витамины группы В, тонкослойная хроматография, органические растворители, фосфатный буферный раствор, мицеллярные подвижные фазы

Образец для цитирования: Кутина А. А., Сумина Е. Г., Углонова В. З. Сравнение двух типов подвижных фаз для определения витаминов группы В методом тонкослойной хроматографии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 4. С. 370–381. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-4-370-381>, EDN: FASKKF

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)



Article

Comparison of two types of mobile phases for the determination of B vitamins by thin layer chromatographyA. A. Kutina, E. G. Sumina , V. Z. Uglanova

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Angelina A. Kutina, kutina2000@mail.ru

Elena G. Sumina, suminaeg@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7310-9459>Varseniya Z. Uglanova, uglanovavz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6638-4508>

Abstract. Thin-layer chromatography (TLC) has been used to study the influence of a number of factors (the nature of the stationary phase, the nature and concentration of the organic solvents and surfactants, the pH of the buffer solution) on the chromatographic characteristics of B vitamins: B₁ (thiamine), B₆ (pyridoxine), B₁₂ (cyanocobalamin). The stationary phases were plates with polar (Sorbfil on a polymer (high-performance plates, HTLC) and aluminum substrates), weakly polar (Polyamide-6), and nonpolar (RP-18 on an aluminum substrate) sorbents. As micellar mobile phases – micellar solutions of cetylpyridinium chloride in the concentration range 5–10⁻⁴ – 5–10⁻¹ M, sodium dodecyl sulfate in the concentration range 2,5–10⁻⁴ – 5–10⁻¹ M. It has been established that among aqueous-organic mobile phases (MF) the best results have been obtained for MF of the composition acetonitrile – water (15:385) on polar high-performance plates. More effective than acetonitrile – water is the PF of the composition acetonitrile – cetylpyridinium chloride (15:85) in the presence of a phosphate buffer solution with pH = 3. For the last PF, TLC determination of vitamins B₁, B₆, B₁₂ in pharmaceutical preparations with a Sr value of interval 0.01–0.06 has been developed.

Keywords: vitamins B, thin layer chromatography, organic solvents, phosphate buffer solution, micellar mobile phases

For citation: Kutina A. A., Sumina E. G., Uglanova V. Z. Comparison of two types of mobile phases for the determination of B vitamins by thin layer chromatography. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 4, pp. 370–381 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-4-370-381>, EDN: FASKKF

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В настоящее время одной из актуальных проблем аналитической химии и медицины является изучение различных медикаментозных препаратов, используемых для реабилитации людей после перенесенного COVID-19. Учитывая необычность самой ситуации пандемии и особенности патогенеза заболевания, применение общепринятых методов может быть небезопасным или неэффективным [1].

Исходя из проведенных на сегодняшний день исследований, вирус затрагивает все органы и системы, в том числе повреждение головного мозга вследствие своей нейротропности [2, 3].

Водорастворимые витамины группы В – В₁, В₆, В₁₂ относят к препаратам, которые локализируются в мембранах нервных клеток, оказывают существенное влияние на процессы регенерации поврежденных вирусом нервных волокон, а также участвуют в энергетических процессах в нервных клетках [4].

Дополнительный интерес к витаминам группы В вызван их влиянием на процессы свободнорадикального окисления, играющего важную роль в патогенезе многих заболеваний, что позволило отнести их к витаминам-антиоксидантам [4–6]. Эти вещества активно участвуют в образовании и функционировании ферментов, регуляции энергетического обмена сердца, способствуют усвоению питательных веществ, нормализуют рост клеток и развитие всего организма.

Исходя из значимости этих препаратов, перспективным является разработка новых и совершенствование известных методов и приемов определения витаминов, что возможно реализовать с помощью современных хроматографических методов.

Вследствие сложного состава, нелетучести и необходимости определения как отдельных составляющих, так и примесей наиболее часто для их определения применяют метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) [7–16] с разными вариантами детектирования: спектрофотометрическим [9, 17–20], флуориметрическим [11, 21], масс-спектрометрическим [11, 22, 23] и другими детекторами [11]. Кроме этого, водорастворимые витамины определяют методами ЯМР- [24, 25], УФ-спектроскопии [11, 26, 27], капиллярным электрофорезом [28–33].

В отдельных работах для определения витаминов применяется также планарный вариант жидкостной хроматографии в варианте тонкослойной хроматографии (ТСХ) [34–37], который вследствие своей простоты, скорости, необходимости минимальной очистки образца, высокой прецизионности находит все более широкое применение. В настоящей работе проведено дальнейшее развитие этого метода на примере определения витаминов В₁, В₆, В₁₂ с двумя типами подвижных фаз (ПФ) с целью выявления лучшей для практического применения в анализе.



Материалы и методы

Реагенты. Использовали витамины группы В: тиамин (В₁, 5%-ный водный раствор, «Борисовский завод медицинских препаратов», Россия), пиридоксин (В₆, 5%-ный водный раствор, «Биосинтез», Россия), цианокобаламин (В₁₂, 500 мкг витамина в ампуле, ОАО «Дальхимфарм», Россия) (рис. 1). Модельные растворы исследуемых витаминов (50 мг/мл для тиамина

и пиридоксина, 0,5 мг/мл для цианокобаламина) готовили разбавлением ампульных растворов бидистиллированной водой. Рабочие растворы витаминов В₁ и В₆ с концентрациями 1–10⁻³ мг/мл готовили разбавлением модельных систем в воде. Раствор витамина В₁₂ из ампулы использовали в качестве рабочего, так как разбавление уменьшало чувствительность детектирования. Все растворы хранили в холодильной камере.

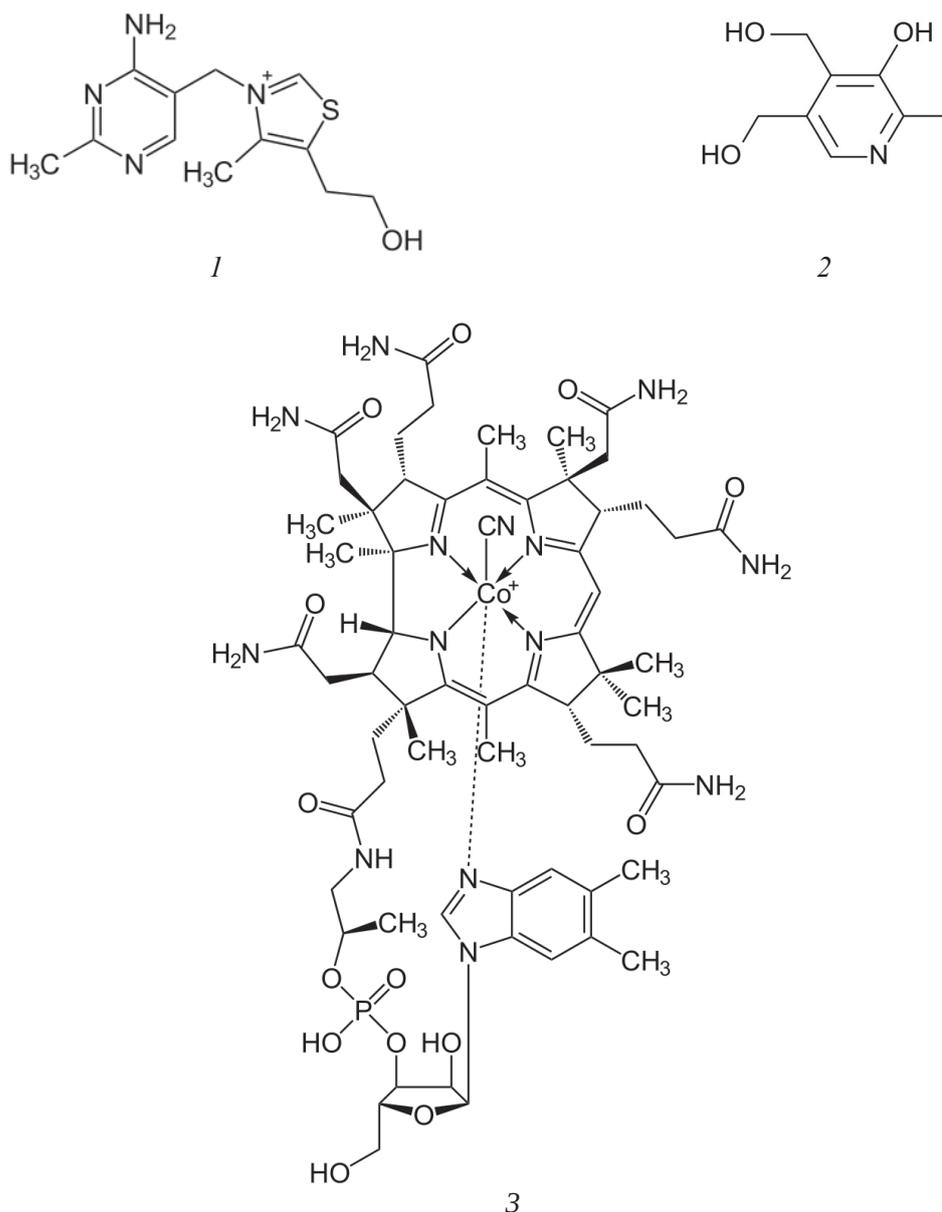


Рис. 1. Структура исследуемых витаминов группы В: 1 – тиамин, В₁ (3-[(4-амино-2-метил-5-пиримидил) метил]-5-(2-гидроксиэтил)-4-метил-тиазол); 2 – пиридоксин, В₆ (4,5-дигидроксиметил-2-метилпиридин-3-ол); 3 – цианокобаламин, В₁₂ (Со- α -[α -(5,6-диметил-бензимидазолил)]-(Со- β -циано)кобамид)

Fig. 1. Structure of the studied vitamins of group В: 1 – thiamine, В₁ (2-[3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-4-methyl-1,3-thiazol-3-ium-5-yl]ethanol); 2 – pyridoxinum, В₆ (4,5-Bis(hydroxymethyl)-2-methylpyridin-3-ol); 3 – cyanocobalamin, В₁₂ (Cyano-5,6-dimethylbenzimidazole-cobalamin)



Для приготовления водно-органических ПФ использовали этанол ректифицированный, ацетонитрил (о.с.ч.), уксусную кислоту (ч.д.а.); фосфатный буфер готовили растворением в колбе объемом 100 мл 0,68 г калия дигидрофосфата, доводя до нужного рН потенциометрически с помощью концентрированной фосфорной кислоты [38].

Для приготовления мицеллярных ПФ использовали растворы катионных (хлорида цетилпиридиния (ЦПХ), 96%, НПО «Синтез ПАВ», Россия) и анионных (додецилсульфата натрия (ДДСNa), 98%, НПО «Синтез ПАВ», Россия) поверхностно-активных веществ (ПАВ). Исходные растворы ПАВ с концентрацией 0,2 М готовили по точной навеске, растворением в дистиллированной воде при нагревании до 40–50° С. Рабочие растворы всех веществ готовили разбавлением исходных перед употреблением.

Аппаратура. Исследования проводили методом восходящей ТСХ на коммерческих пластинах с полярной – Сорбфил на полимерной (высокоэффективные пластины, высокопроизводительная тонкослойная хроматография (ВТСХ)) и алюминиевой подложках (Сорбполимер, Краснодар, Россия), слабополярной – Полиамид-6 на полимерной (Fluka, Германия) и неполярной – RP-18 (Merck, Дармштадт, Германия) алюминиевой подложке фазами.

После хроматографирования пластинки сушили в течение 4–5 мин при 80°С в сушильном шкафу, охлаждали на воздухе, детектировали в УФ-свете при $\lambda = 254$ нм и рассчитывали значения подвижности (R_f) витаминов, а также параметры эффективности разделения (число теоретических тарелок (N) и высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ) (H)) и селективность (α). Обработку параметров хроматограмм проводили с помощью многофункционального графического редактора «Adobe Photoshop CC 2018» (США).

Значения рН буферных растворов контролировали на приборе рН-метр (рН-673.М, Россия) со стеклянным индикаторным электродом и хлоридсеребряным электродом сравнения.

Результаты и их обсуждение

Хроматографические характеристики витаминов в водно-органических ПФ. Выбор оптимальной НФ

При выборе оптимальных условий проводили сравнение четырех неподвижных фаз (НФ): Сорбфил на алюминиевой подложке, высокоэффективные пластины Сорбфил на полимерной подложке, Полиамид-6, RP-18 в сочетании с ПФ ацетонитрил – вода в соотношении 15:85, выбранной на основе данных литературы [35, 39, 40]. Результаты исследований представлены на рис. 2.

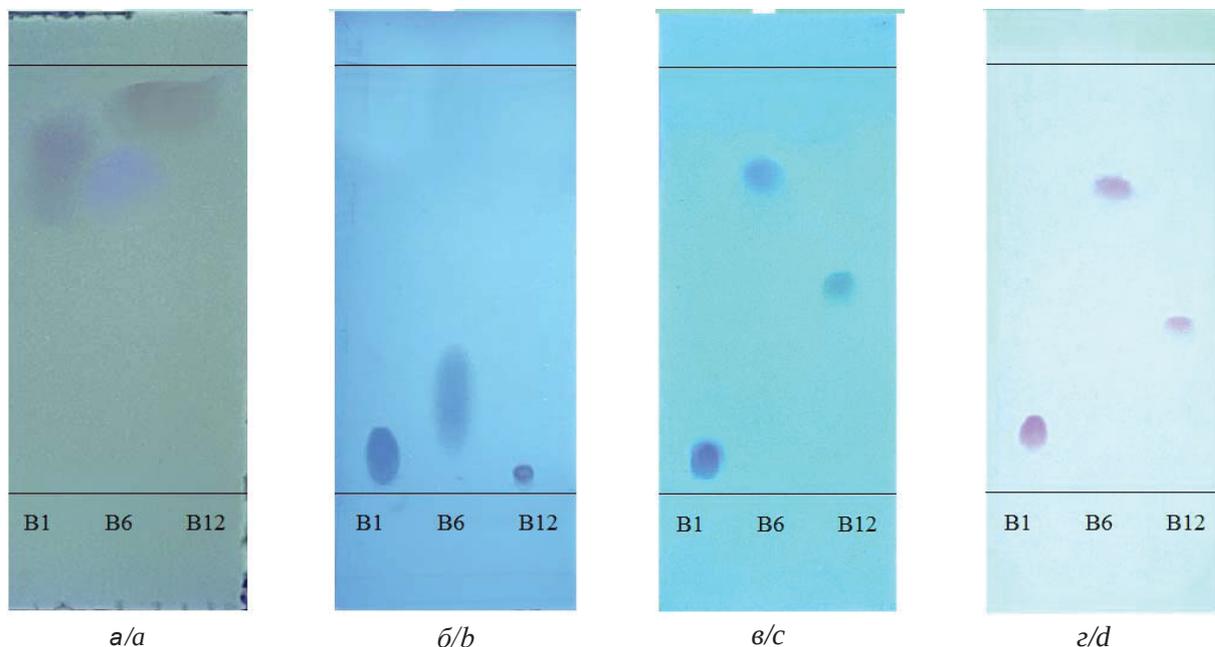


Рис. 2. Влияние природы НФ на хроматографические характеристики витаминов группы В (B_1 – тиамин, B_6 – пиридоксин, B_{12} – цианокобаламин): а – Полиамид-6, б – RP-18, в – Сорбфил, г – Сорбфил, ВТСХ. ПФ: ацетонитрил – вода (15:85). $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл

Fig. 2. Influence of the nature of SP on the chromatographic characteristics of vitamins of group B (B_1 – thiamine, B_6 – pyridoxinum, B_{12} – cyanocobalamin): а – Polyamide-6, б – RP-18, в – Sorbfil, д – Sorbfil, HP TLC. MP: acetonitrile – water (15:85). $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml



Хроматограммы позволяют заключить, что оптимальными неподвижными фазами в данных условиях являются пластины Сорбфил высокоэффективные на полимерной подложке, так как в этом случае образуются наиболее разрешенные и компактные зоны, в то время как на пластинах Полиамид-6 зоны размыты (см. рис. 2). Использование неподвижных фаз

RP-18 непригодно для определения витаминов, поскольку хроматографические зоны витаминов В₁ и В₆ остаются на линии старта. Полученные результаты подтверждены расчетом параметров эффективности (табл. 1).

Исходя из рассчитанных параметров можно сделать вывод, что неподвижная фаза ε (см. рис. 2) является оптимальной.

Таблица 1 / Table 1

Хроматографические характеристики анализируемых систем (В₁ – тиамин, В₆ – пиридоксин, В₁₂ – цианокобаламин) на различных НФ. ПФ: ацетонитрил – вода (15 : 85). C_R = 1·10⁻³ мг/мл (n = 3, P = 0,95)
Chromatographic characteristics of the analyzed systems (В₁ – thiamine, В₆ – pyridoxinum, В₁₂ – cyanocobalamin) in various SP. MP: acetonitrile – water (15 : 85). C_R = 1·10⁻³ mg/ml (n = 3, P = 0,95)

НФ / SP	$\overline{R_f}$			N			H, мм / H, mm		
	В ₁	В ₆	В ₁₂	В ₁	В ₆	В ₁₂	В ₁	В ₆	В ₁₂
Полиамид-6 / Polyamide-6	–	–	–	–	–	–	–	–	–
RP-18 / RP-18	0,07	0,24	0,04	7,1	1,4	1,7	9,8	49	40
Сорбфил / Sorbfil	0,08	0,76	0,49	12	1600	615	5,9	0,044	0,11
Сорбфил, ВТСХ / Sorbfil, HP TLC	0,14	0,74	0,44	41	2601	841	1,7	0,027	0,083

Выбор оптимальной ПФ

Водно-органические подвижные фазы

Согласно известным литературным данным для определения витаминов группы В часто используют метанол, бензол, хлороформ, гексан, этилацетат, н-бутанол и другие токсичные органические растворители. Известна работа [39], в которой применяют смеси ацетонитрила

и воды. Учитывая перспективность этих систем, отмеченную авторами [39], нами проведено их дальнейшее исследование.

Выбор оптимальной ПФ проводили при варьировании объема СН₃CN и Н₂O в отсутствие и присутствии буферного раствора. На рис. 3 представлены результаты эксперимента при использовании в качестве ПФ системы

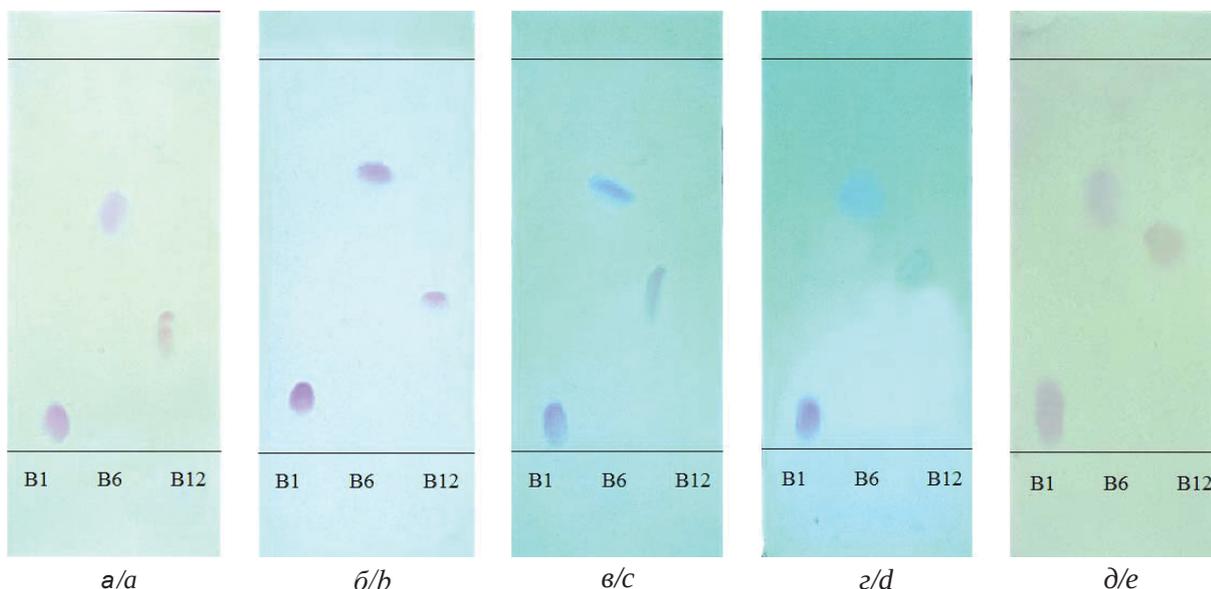


Рис. 3. Влияние соотношения СН₃CN – Н₂O в ПФ на хроматографические характеристики витаминов. НФ: Сорбфил (ПП), ВТСХ. C_R = 1·10⁻³ мг/мл. В₁ – тиамин, В₆ – пиридоксин, В₁₂ – цианокобаламин. ПФ: ацетонитрил – вода, а – 10:90, б – 15:85, в – 20:80, г – 30:70, д – 50:50

Fig. 3. Influence of the СН₃CN – Н₂O Ratio in MP on the chromatographic characteristics of vitamins. SP: Sorbfil (PP), HP TLC. C_R = 1·10⁻³ mg/ml. В₁ – thiamine, В₆ – pyridoxinum, В₁₂ – cyanocobalamin. MP: acetonitrile – water, a – 10:90, b – 15:85, c – 20:80, d – 30:70, e – 50:50



ацетонитрил – вода в следующих соотношениях компонентов: 10:90, 15:85, 20:80, 30:70, 50:50. На основании полученных результатов установлено, что вариант б на рис. 3 является оптимальным для дальнейшего модифицирования ПФ фос-

фатными буферами, лучший из которых при pH 3 представлен на рис. 4 и использовался далее. В табл. 2 приведено подтверждение этого выбора на основании расчета параметров эффективности разделения витаминов.

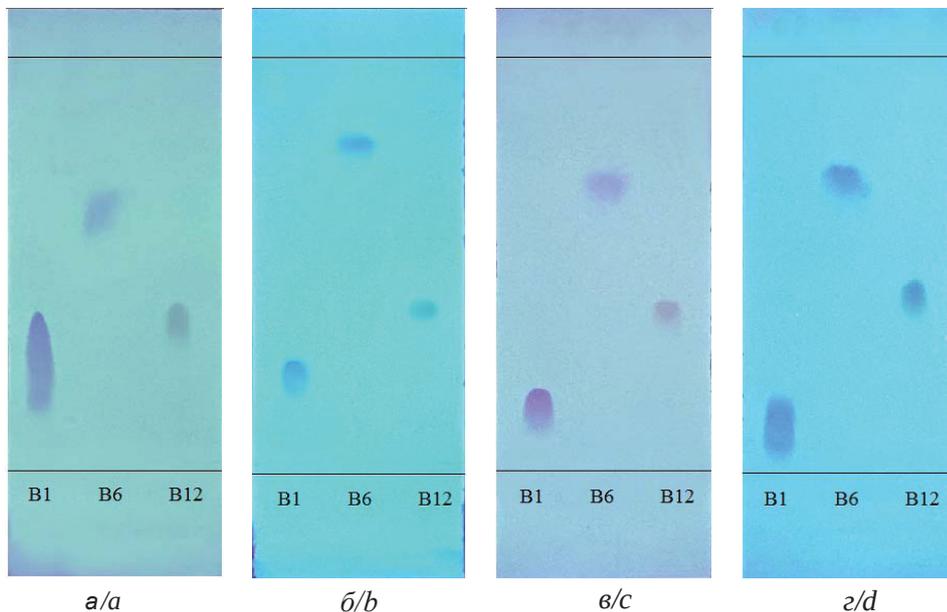


Рис. 4. Хроматограммы витаминов B_1 – тиамин, B_6 – пиридоксин, B_{12} – цианокобаламин в водно-органических ПФ, содержащих фосфатный буферный раствор. НП: Сорбфил (ПП), ВТСХ. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл. ПФ: CH_3CN – ФБ (15:85). а – 2; б – 3; в – 4; г – 5

Fig. 4. Chromatograms of vitamins B_1 – thiamine, B_6 – pyridoxinum, B_{12} – cyanocobalamin in aqueous organic MP containing phosphate buffer solution. SP: Sorbfil (PP), HP TLC. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml. MP: CH_3CN – PhB (15:85). а – 2; б – 3; в – 4; г – 5

Таблица 2 / Table 2

Хроматографические характеристики анализируемых систем (B_1 – тиамин, B_6 – пиридоксин, B_{12} – цианокобаламин) при различных значениях pH фосфатного буферного раствора. НП: Сорбфил, ВТСХ. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл. ПФ: ацетонитрил – ФБ (15:85) ($n = 3, P = 0,95$)

Chromatographic characteristics of the analyzed systems in various (B_1 – thiamine, B_6 – pyridoxinum, B_{12} – cyanocobalamin) MP. SP: Sorbfil, HP TLC. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml MP: acetonitrile – PhB (15:85) ($n = 3, P = 0,95$)

pH ФБ / pH PhB	$\overline{R_f}$			N			H, мм / H, mm		
	B_1	B_6	B_{12}	B_1	B_6	B_{12}	B_1	B_6	B_{12}
2	0,26	0,64	0,37	4,9	549	173	14	0,13	0,40
3	0,24	0,83	0,42	87	2916	1393	0,80	0,024	0,050
4	0,16	0,73	0,40	9,1	1474	625	7,7	0,047	0,11
5	0,12	0,72	0,44	2,3	1218	324	31	0,058	0,22

Мицеллярные подвижные фазы

Особенность мицеллярных растворов в том, что в гомогенной водной или неводной среде гидрофильные молекулы ПАВ при определенной концентрации (критической концентрации мицеллообразования (ККМ) спонтанно образуют наноразмерные (радиусом 1,5–3 нм) динамич-

еские дисперсные агрегаты, состоящие из нескольких десятков ионов или молекул ПАВ, которые называют мицеллами [41]. Главная особенность мицелл заключается в том, что среда внутри мицелл противоположна по полярности воде (основному растворителю подвижной фазы), что позволяет в мицеллярном растворе



растворять как полярные (в водной макрофазе), так и неполярные (в наноразмерных мицеллах) вещества. Таким образом, в хроматографической системе разделяемые соединения участвуют не только в равновесии «неподвижная фаза – подвижная фаза», но и в дополнительном равновесии «растворитель – мицелла» внутри самой подвижной фазы, которое влияет на селективность хроматографического разделения. Жидкостную хроматографию (ЖХ), основанную на применении в качестве подвижных фаз мицеллярных растворов ПАВ сначала называли псевдофазной ЖХ [42, 43], а затем мицеллярной ЖХ (МЖХ) [44, 45], а подвижные фазы, содержащие мицеллы ПАВ – мицеллярными подвижными фазами (МПФ) [41, 46–48].

Ранее для витаминов в работе [34] было показано, что МПФ улучшают хроматографические характеристики анализируемых веществ. Однако системного определения в этом случае не проводилось.

При выборе оптимального состава МПФ использовали хлорид цетилпиридиния в интервале $5 \cdot 10^{-4}$ – $5 \cdot 10^{-1}$ М и додецилсульфат натрия в интервале $2,5 \cdot 10^{-4}$ – $2,5 \cdot 10^{-1}$ М на высокоэффективных пластинах Сорбфил (ПП).

Установлено, что лучшие хроматографические характеристики витаминов получены для систем ЦПХ – CH_3CN при концентрации кПАВ $5 \cdot 10^{-4}$ М и соотношении ЦПХ – CH_3CN = 85:15 (об. %), найденные значения R_f , N и H представлены в табл. 3.

Таблица 3 / Table 3

Хроматографические характеристики анализируемых систем (B_1 – тиамин, B_6 – пиридоксин, B_{12} – цианокобаламин) в ПФ: ацетонитрил (15 об. %) – ПАВ. НПФ: Сорбфил, ВТСХ. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл ($n = 3, P = 0,95$)
Chromatographic characteristics of the analyzed systems (B_1 – thiamine, B_6 – pyridoxinum, B_{12} – cyanocobalamin) in various MP: acetonitrile (15 об. %) – surfactants. SP: Sorbfil, HP TLC. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml ($n = 3, P = 0,95$)

ПАВ Surfactant	$\overline{R_f}$			N			H, мм / H, mm		
	B_1	B_6	B_{12}	B_1	B_6	B_{12}	B_1	B_6	B_{12}
ЦПХ ($5 \cdot 10^{-4}$ М) СРС ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	0,11	0,86	0,50	25	2657	1521	2,8	0,026	0,046
ДДСNa ($5 \cdot 10^{-3}$ М) ДДСNa ($5 \cdot 10^{-3}$ М)	0,14	0,77	0,49	28	1798	484	2,5	0,039	0,140

Исходя из результатов определения был проведен анализ смеси витаминов при их соотношении 1:1:1 в анализируемой системе (табл. 4) и проведено сравнительное определение B_1 , B_6 , B_{12} в лучших водно-органических и МПФ при анализе препаратов «Комбилипен»,

«Пентовит» и «Эллигамин». S_r изменяется в диапазоне 0,01–0,06 (рис. 5). Правильность определения установлена методом стандартной добавки. Содержание цианокобаламина (B_{12}) не найдено, так как лежит за пределами чувствительности метода ТСХ.

Таблица 4 / Table 4

Селективность разделения витаминов (B_1 – тиамин, B_6 – пиридоксин, B_{12} – цианокобаламин) в различных ПФ. НПФ: Сорбфил, ВТСХ. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл ($n = 3, P = 0,95$)

Selectivity of separation of vitamins (B_1 – thiamine, B_6 – pyridoxinum, B_{12} – cyanocobalamin) in different MP. SP: Sorbfil, HP TLC. $C_R = 1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml ($n = 3, P = 0,95$)

ПФ / MP	Исследуемые вещества Test substances	R_s	α
CH_3CN – вода (15:85) CH_3CN – water (15:85)	B_1+B_6	1,26	0,04
	B_1+B_{12}	1,01	0,24
	$B_{12}+B_6$	1,52	0,18
CH_3CN – ФБ (15:85) (рН 3) CH_3CN – PhB (15:85) (рН 3)	B_1+B_6	1,40	0,07
	B_1+B_{12}	1,18	0,36
	$B_{12}+B_6$	1,60	0,19
CH_3CN (15 об.%) – ЦПХ ($5 \cdot 10^{-4}$ М) CH_3CN (15 vol. %) – СРС ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	B_1+B_6	1,22	0,02
	B_1+B_{12}	0,99	0,11
	$B_{12}+B_6$	1,60	0,20

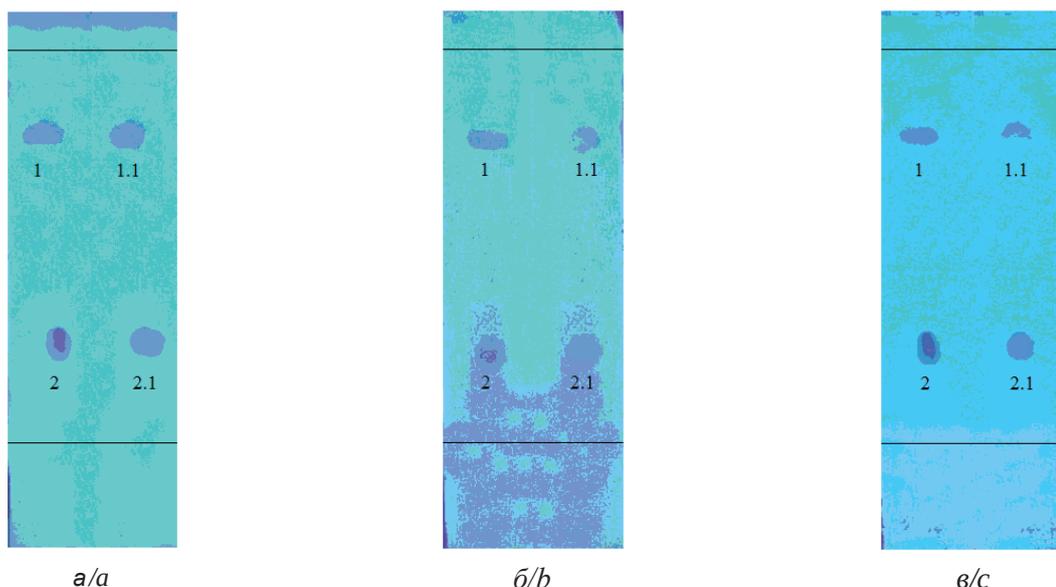


Рис. 5. Хроматограммы витаминов в исследуемых объектах: а – «Комбилипен», б – «Пентовит», в – «Эллигамин»; 1 – пиридоксин (витамин В₆), 2 – тиамин (витамин В₁), 1.1 – стандартное вещество В₆, 2.1 – стандартное вещество В₁. ПФ: ацетонитрил (15 об.%) – ЦПХ (5·10⁻⁴ М). НФ: Сорбфил, ВТСХ
 Fig. 5. Chromatograms of vitamins in the studied objects: а – “Combilipen”, б – “Pentovit”, в – “Elligamine”. 1 – pyridoxinum (vitamin В₆), 2 – thiamine (vitamin В₁), 1.1 – standard substance В₆, 2.1 – standard substance В₁. MP: acetonitrile (15 об. %) – CPC (5·10⁻⁴ М). SP: Sorbfil, HP TLC

Расчет разрешения R_s в исследуемых системах свидетельствует о практически полном разделении витаминов.

Заключение

Методом ТСХ изучены хроматографические характеристики тиамин, пиридоксин и цианокобаламина в водно-органических и мицеллярных подвижных фазах при варьировании содержания органического растворителя, pH подвижной фазы и концентрации ПАВ. Установлено, что введение фосфатного буферного раствора в оба типа подвижных фаз улучшает хроматографические характеристики исследуемых витаминов. Эффективность и селективность разделения витаминов лучше в мицеллярных подвижных фазах.

Проведенные исследования использованы для определения пиридоксина и тиамин в фармацевтических препаратах «Комбилипен», «Пентовит» и «Эллигамин», со значениями S_r 0,01–0,06. Разработанный метод ТСХ с мицеллярными подвижными фазами практически исключает применение летучих, канцерогенных, высокотоксичных растворителей и не уступает по эффективности органическим элюентам, а разработанные в работе подходы позволяют решать основные задачи зеленой химии.

Список литературы

1. Иванова Г. Е., Шмонин А. А., Мальцева М. Н., Мишина И. Е., Мельникова Е. В., Бодрова Р. А., Цыкунов М. Б., Бахтина И. С., Калинина С. А., Баландина И. Н., Соловьёва Л. Н., Иванова Н. Е., Суворов А. Ю., Дидур М. Д. Реабилитационная помощь в период эпидемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 на первом, втором и третьем этапах медицинской реабилитации // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2020. Т. 2, № 2. С. 98–117. <https://doi.org/10.36425/rehab34148>
2. Щербак Д. Д., Ахмедов В. А. Тактика реабилитации пациентов с неврологическими осложнениями COVID-19 // Медицинский оппонент. 2022. Т. 4, № 20. С. 72–75.
3. Белобородова Н. В., Гречко А. В., Зурабов А. Ю., Зурабов Ф. М., Кузовлев А. Н., Петрова М. В., Черневская Е. А., Яковлев А. А. Перспективы применения технологии адаптивной фаготерапии в реабилитации пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2021. Т. 3, № 3. С. 254–259. <https://doi.org/10.36425/rehab80658>
4. Строчков И. А., Ахмеджанова Л. Т., Солоха О. А. Витамины группы В в лечении неврологических заболеваний // Российский медицинский журнал. 2009. Т. 17, № 11. С. 776–783.
5. Чугунов А. В., Казаков К. А., Казаков А. Ю. Применение нейротропных витаминов при лечении



- пациентов с различными поражениями периферической нервной системы // РМЖ. Медицинское обозрение. 2020. Т. 4, № 9. С. 606–611. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-9-606-611>
6. Morava E. Guidelines on homocystinurias and methylation defects: A harmonized approach to diagnosis and management // *J. Inherit. Metab. Dis.* 2017. Vol. 40, № 1. P. 1–2. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-9998-x>
 7. Филимонов В. Н., Сирицо С. И., Макрушин Н. А. Особенности хроматографического разделения водорастворимых витаминов в изократической ОФ ВЭЖХ // Сорбционные и хроматографические процессы. 2006. Т. 6, № 2. С. 191–198.
 8. Буланова А. В., Полякова Ю. Л. Хроматография в медицине и биологии. Самара : Изд-во Самарского университета, 2006. 105 с.
 9. Pérez-Cejuela H. M., Mon M., Ferrando-Soria J., Pardo E., Armentano D., Simo-Alfonso E. F., Herrero-Martínez J. M. Bio-metal-organic frameworks for molecular recognition and sorbent extraction of hydrophilic vitamins followed by their determination using HPLC-UV // *Microchim. Acta.* 2020. Vol. 187, № 201. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-4185-z>
 10. Бендрышев А. А., Пашкова Е. Б., Пирогов А. В., Шпунгун О. А. Определение водорастворимых витаминов в витаминных премиксах, биологически активных добавках и фармацевтических препаратах методом высоко эффективной жидкостной хроматографии с градиентным элюированием // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2010. Т. 51, № 4. С. 315–324.
 11. Yuan Zhang, Wei-e Zhou, Jia-qing Yan, Min Liu, Yu Zhou, Xin Shen, Ying-lin Ma, Xue-song Feng, Jun Yang, Guo-hui Li. A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010 // *Molecules.* 2018. Vol. 23, № 6. P. 1484–1508. <https://doi.org/10.3390/molecules23061484>
 12. Chamkouri N. SPE-HPLC-UV for simultaneous determination of vitamins B group concentrations in *Suaeda vermiculata* // *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences.* 2014. Vol. 4, № 4. P. 439–443.
 13. Chamkouri N. HPLC DAD determination of some vitamins b group concentrations in *Suaeda aegyptiaca* // *Advances in Environmental Biology.* 2014. Vol. 8, № 13. P. 911–915.
 14. Berton P., Monasterio R. P., Wuilloud R. G. Selective extraction and determination of vitamin B12 in urine by ionic liquid-based aqueous two-phase system prior to high-performance liquid chromatography // *Talanta.* 2012. Vol. 15, № 97. P. 521–526. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.05.008>
 15. Hasan M., Akhtaruzzaman M., Sultan M. Estimation of vitamins B-complex (B₂, B₃, B₅ and B₆) of Some Leafy Vegetables Indigenous to Bangladesh by HPLC Method // *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation.* 2013. Vol. 3, № 3A. P. 24–29. <https://doi.org/10.4236/jasmi.2013.33A004>
 16. Leacock R. E., Stankus J. J., Davis J. M. Simultaneous determination of caffeine and vitamin B6 in energy drinks by high-performance liquid chromatography (HPLC) // *J. Chem. Educ.* 2011. Vol. 88, № 2. P. 232–234. <https://doi.org/10.1021/ed100146s>
 17. Руденко А. О., Карцова Л. А. Определение водорастворимых витаминов группы В и витамина С в комбикормах, премиксах и биологически-активных добавках методом обращенно-фазовой ВЭЖХ // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65, № 1. С. 73–78.
 18. Moreno P., Salvado V. Determination of eight water- and fat-soluble vitamins in multi-vitamin pharmaceutical formulations by high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2000. Vol. 870, № 18. P. 207–215. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01021-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01021-3)
 19. Markopoulou C. K., Kagkadis K. A., Koundourellis J. E. An optimized method for the simultaneous determination of vitamins B1, B6, B12 in multivitamin tablets by high performance liquid chromatography // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2022. Vol. 30, № 4. P. 1403–1410. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00456-9](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00456-9)
 20. Perveen S., Yasmina A., Khan M. Kh. Quantitative simultaneous estimation of water soluble vitamins, riboflavin, pyridoxine, cyanocobalamin and folic acid in nutraceutical products by HPLC // *The Open Analytical Chemistry Journal.* 2009. № 3. P. 1–5. <https://doi.org/10.2174/1874065000903010001>
 21. Гармонов С. Ю., Салахов И. А., Нурисламова Г. Р., Исмаилова Р. Н., Иртуганова Э. А., Сопин В. Ф. Определение аскорбиновой кислоты, тиамина, рибофлавина, никотинамида и пиридоксина в лекарственном препарате «Гексавит» методом ВЭЖХ // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45, № 7. С. 48–51.
 22. Жижин Н. А. Определение витамина В12 в сухих смесях для детского питания методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с хроматомасс-спектрометрическим детектированием // *Аграрная наука.* 2022. № 5. С. 132–136. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-132-136>
 23. Santos J., Mendiola J. A., Oliveira M. B., Ibáñez E., Herrero M. Sequential determination of fat- and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage // *J. Chromatogr. A.* 2012. Vol. 1261. P. 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.067>
 24. Harner M. J., Mueller L., Robbins K. J., Reily M. D. NMR in drug design // *Arch. Biochem. Biophys.* 2017. Vol. 628. P. 132–147. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.06.005>
 25. Medek A., Frydman L. A Multinuclear solid-state nmr analysis of vitamin B₁₂ in its different polymorphic forms // *J. Am. Chem. Soc.* 2000. Vol. 122, № 4. P. 684–691. <https://doi.org/10.1021/ja992939u>
 26. Барыкин Н. В., Черданцева Е. В., Матерн А. И. Количественное определение витаминов группы В при совместном присутствии методом молекулярной спектроскопии в УФ и видимой областях // Бутлеровские сообщения. 2012. Т. 31, № 7. С. 33–37.
 27. Xiao X., Hou Y., Du J., Sun D., Bai G., Luo G. Determination of vitamins B2, B3, B6 and B7 in corn steep liquor



- by NIR and PLSR // *Trans. Tianjin Univ.* 2012. Vol. 18. P. 372–377. <https://doi.org/10.1007/s12209-012-1932-1>
28. Стурова И. В., Комарова Н. В., Страшила Н. Ю., Калач А. В. Определение витамина В1 в растительных премиксах методами зонного капиллярного электрофореза и флуориметрии // *Химия растительного сырья*. 2007. №4. С. 121–122.
 29. Морзунова Т. Г. Капиллярный электрофорез в фармацевтическом анализе (обзор) // *Химико-фармацевтический журнал*. 2006. Т. 40, № 3. С. 39–52.
 30. Da Silva D. C., Visentainer J. V., de Souza N. E., Oliveira C. C. Micellar electrokinetic chromatography method for determination of the ten water-soluble vitamins in food supplements // *Food Anal. Methods*. 2013. Vol. 6. P. 1592–1606. <https://doi.org/10.1007/s12161-013-9576-x>
 31. Yin C., Cao Y., Ding S., Wang Y. Rapid determination of water- and fat-soluble vitamins with microemulsion electrokinetic chromatography. // *J. Chromatogr. A*. 2008. Vol. 1193. P. 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.04.016>
 32. Aurora-Prado M. S., Silva C. A., Tavares M. F. M., Altria K. D. Rapid determination of water-soluble and fat-soluble vitamins in commercial formulations by МЕЕКС // *Chromatographia*. 2010. Vol. 72. P. 687–694. <https://doi.org/10.1365/s10337-010-1704-9>
 33. Liu Q., Jia L., Hu C. On-Line concentration methods for analysis of fat-soluble vitamins by MEKC // *Chromatographia*. 2010. Vol. 72. P. 95–100. <https://doi.org/10.1365/s10337-010-1608-8>
 34. Карцова Л. А., Королева О. А. Совместное определение водо- и жирорастворимых витаминов методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии с использованием водно-мицеллярной подвижной фазы // *Журн. аналит. химии*. 2007. Т. 62, № 3. С. 281–286.
 35. Panahi H. A., Kalal H. S., Rahimi A., Moniri E. Isolation and quantitative analysis of B₁, B₂, B₆ and B₁₂ vitamins using high-performance thin-layer chromatography // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2011. Vol. 45, № 2. P. 125–129. <https://doi.org/10.1007/s11094-011-0574-2>
 36. Cimpoiu C., Casoni D., Hosu A., Miclaus V., Hodisan T., Damian G. Separation and identification of eight hydrophilic vitamins using a new TLC method and raman spectroscopy // *J. of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2005. Vol. 28, № 16. P. 2561–2569. <https://doi.org/10.1080/10826070500189737>
 37. Elzanfaly E. S., Nebsen M., Ramadan N. K. Development and validation of PCR, PLS, and TLC densitometric methods for the simultaneous determination of vitamins B(1), B(6) and B(12) in pharmaceutical formulations // *Pak. J. Pharm. Sci.* 2010. Vol. 23, № 4. P. 409–415.
 38. ОФС.1.3.0003.15 Буферные растворы // Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд., 2015.
 39. Карцова Л. А., Хмельницкий И. К., Печенко Т. В., Алексеева А. В., Березкин В. Г. Одновременное определение водо- и жирорастворимых витаминов в различных режимах высокоэффективной тонкослойной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2007. Т. 7, вып. 6. С. 909–917.
 40. Сумина Е. Г., Штыков С. Н., Тюрина Н. В. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение: учебное пособие для студентов, обучающихся по специальности 011000 «Химия». Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2006. 110 с.
 41. Савин С. Б., Чернова Р. К., Штыков С. Н. Поверхностно-активные вещества. Аналитические реагенты. М.: Наука, 1991. 251 с.
 42. Armstrong D. W., Terri R. Q. Thin layer chromatography separation of pesticides, decachlorobiphenyl and nucleosides with micellar solution // *Anal. Chem.* 1979. Vol. 51, № 13. P. 2160–2164. <https://doi.org/10.1021/ac50049a025>
 43. Armstrong D. W., McNeely M. Use of micelles in the TLC separation of polynuclear aromatic compounds and amino acids // *Analytical Letters*. 1979. Vol. 12, № 12. P. 1285–1291. <https://doi.org/10.1080/00032717908067919>
 44. Armstrong D. W., Bui K. H., Barry R. M. Use of pseudo-phase TLC in teaching laboratories // *Journal of Chemical Education*. 1984. Vol. 61, № 5. P. 457. <https://doi.org/10.1021/ed061p457>
 45. Штыков С. Н. Химический анализ в нанореакторах: основные понятия и применение // *Журн. аналит. химии*. 2002. Т. 57, № 10. С. 1018–1028.
 46. Pramauro E., Pelizzetti E. Surfactants in Analytical Chemistry. Application of Organized Amphiphilic Media. Elsevier, 1996. 521 p.
 47. Сумина Е. Г., Штыков С. Н., Тюрина Н. В. Поверхностно-активные вещества в тонкослойной хроматографии // *Журн. аналит. химии*. 2003. Т. 58, № 8. С. 808–818. <https://doi.org/10.1023/A:102527409149>
 48. Штыков С. Н., Сумина Е. Г., Тюрина Н. В. Расчет коэффициентов межфазного распределения органических реагентов в мицеллярной ТСХ // *Журн. аналит. химии*. 2002. Т. 57, № 4. С. 383–387. <https://doi.org/10.1023/A:1014950314681>

References

1. Ivanova G. E., Shmonin A. A., Maltseva M. N., Mishina I. E., Mel'nikova E. V., Bodrova R. A., Tsykunov M. B., Bakhtina I. S., Kalinina S. A., Balandina I. N., Solov'eva L. N., Ivanova N. E., Suvorov A. Yu., Didur M. D. Rehabilitation care during the new COVID-19 coronavirus infection epidemic at first, second and third medical rehabilitation phases. *Physical and Rehabilitation Medicine, Medical Rehabilitation*, 2020, vol. 2, no. 2, pp. 98–117 (in Russian). <https://doi.org/10.36425/rehab34148>
2. Shcherbakova D. D., Akhmedov V. A. Rehabilitation patients with neurological complications of COVID-19. *Medical Opponent*, 2022, vol. 4, no. 20, pp. 72–75 (in Russian).
3. Beloborodova N. V., Grechko A. V., Zurabov A. Yu., Zurabov F. M., Kuzovlev A. N., Petrova M. V., Chernevskaya E. A., Yakovlev A. A. Prospects of using adaptive phage therapy in the rehabilitation of post-COVID-19



- patients. *Physical and Rehabilitation Medicine, Medical Rehabilitation*, 2021, vol. 3, no. 3, pp. 254–259 (in Russian). <https://doi.org/10.36425/rehab80658>
4. Stokov I. A., Ahmedganova L. T., Soloha O. A. Group B vitamins in the treatment of neurological diseases. *Medical Journal of the Russian Federation*, 2009, vol. 17, no. 11, pp. 776–783 (in Russian).
 5. Chugunov A. V., Kazakov K. A., Kazakov A. Yu. Neurotropic vitamins use in the patient management with various lesions of the peripheral nervous system. *Russian Medical Inquiry*, 2020, vol. 4, no. 9, pp. 606–611 (in Russian). <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-9-606-611>
 6. Morava E. Guidelines on homocystinurias and methylation defects: A harmonized approach to diagnosis and management. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 2017, vol. 40, no. 1, pp. 1–2. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-9998-x>
 7. Filimonov V. N., Siritso S. I., Makrushin N.A. Peculiarities of chromatographic separation of water-soluble vitamins in isocratic RP HPLC. *Sorption and Chromatographic Processes*, 2006, vol. 6, no. 2, pp. 191–198 (in Russian).
 8. Bulanova A. V., Polyakova Yu. L. *Khromatografiya v meditsine i biologii* [Chromatography in Medicine and Biology]. Samara, Izdatel'stvo Samarskogo universiteta, 2006. 105 p. (in Russian).
 9. Pérez-Cejuela H. M., Mon M., Ferrando-Soria J., Pardo E., Armentato D., Simo-Alfonso E. F., Herrero-Martinez J. M. Bio-metal-organic frameworks for molecular recognition and sorbent extraction of hydrophilic vitamins followed by their determination using HPLC-UV. *Microchim. Acta*, 2020, vol. 187, no. 201. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-4185-z>
 10. Bendryshev A. A., Pashkova E. B., Pirogov A. V., Shpigun O. A. Determination of water soluble vitamins in vitamin premixes, biologically active dietary supplements and pharmaceutical preparation by hplc with gradient elution. *Moscow University Chemistry Bulletin*, 2010, vol. 65, no. 4, pp. 260–268 (in Russian).
 11. Yuan Zhang, Wei-e Zhou, Jia-qing Yan, Min Liu, Yu Zhou, Xin Shen, Ying-lin Ma, Xue-song Feng, Jun Yang, Guo-hui Li. A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 6, pp. 1484–1508. <https://doi.org/10.3390/molecules23061484>
 12. Chamkouri N. SPE-HPLC-UV for simultaneous determination of vitamins B group concentrations in *Suaeda vermiculata*. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2014, vol. 4, no. 4, pp. 439–443.
 13. Chamkouri N. HPLC DAD determination of some vitamins B group concentrations in *Suaeda aegyptiaca*. *Advances in Environmental Biology*, 2014, vol. 8, no. 13, pp. 911–915.
 14. Berton P., Monasterio R.P., Wuilloud R.G. Selective extraction and determination of vitamin B12 in urine by ionic liquid-based aqueous two-phase system prior to high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 2012, vol. 15, no. 97, pp. 521–526. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.05.008>
 15. Hasan M., Akhtaruzzaman M., Sultan M. Estimation of vitamins B-complex (B₂, B₃, B₅ and B₆) of some leafy vegetables indigenous to bangladesh by HPLC Method. *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, 2013, vol. 3, no. 3A, pp. 24–29. <https://doi.org/10.4236/jasmi.2013.33A004>
 16. Leacock R. E., Stankus J. J., Davis J. M. Simultaneous determination of caffeine and vitamin B6 in energy drinks by high-performance liquid chromatography (HPLC). *J. Chem. Educ.*, 2011, vol. 88, no. 2, pp. 232–234. <https://doi.org/10.1021/ed100146s>
 17. Rudenko A. O., Kartsova L. A. Determination of water-soluble vitamin B and vitamin C in combined feed, premixes, and biologically active supplements by reversed-phase HPLC. *J. Anal. Chem.*, 2010, vol. 65, no. 1, pp. 71–76 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S1061934810010132>
 18. Moreno P., Salvado V. Determination of eight water- and fat-soluble vitamins in multi-vitamin pharmaceutical formulations by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2000, vol. 870, no. 18, pp. 207–215. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(99\)01021-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(99)01021-3)
 19. Markopoulou C. K., Kagkadis K. A., Koundourellis J. E. An optimized method for the simultaneous determination of vitamins B1, B6, B12 in multivitamin tablets by high performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2022, vol. 30, no. 4, pp. 1403–1410. [https://doi.org/10.1016/s0731-7085\(02\)00456-9](https://doi.org/10.1016/s0731-7085(02)00456-9)
 20. Perveen S., Yasmina A., Khan M. Kh. Quantitative simultaneous estimation of water soluble vitamins, riboflavin, pyridoxine, cyanocobalamin and folic acid in nutraceutical products by HPLC. *The Open Analytical Chemistry Journal*, 2009, no. 3, pp. 1–5. <https://doi.org/10.2174/1874065000903010001>
 21. Garmonov S. Yu., Salakhov I. A., Nurislamova G. R., Ismailova R. N., Irtuganova E. A., Sopin V. F. Assay of ascorbic acid, thiamine, riboflavin, nicotinamide, and pyridoxine in «Hexavit» by HPLC. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2011, vol. 45, no. 7, pp. 440–443 (in Russian).
 22. Zhizhin N. A. Determination of vitamin B₁₂ in dry mixtures for baby food by the method of high performance liquid chromatography with chromatomass-spectrometric detection. *Agrarian Science*, 2022, no. 5, pp. 132–136 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-359-5-132-136>
 23. Santos J., Mendiola J. A., Oliveira M. B., Ibáñez E., Herrero M. Sequential determination of fat- and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage. *J. Chromatogr. A*, 2012, vol. 1261, pp. 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.067>
 24. Harner M. J., Mueller L., Robbins, K. J., Reily M. D. NMR in drug design. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2017, vol. 628, pp. 132–147. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.06.005>
 25. Medek A., Frydman L. A multinuclear solid-state NMR analysis of vitamin B₁₂ in its different polymorphic forms. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, vol. 122, no. 4, pp. 684–691. <https://doi.org/10.1021/ja992939u>



26. Barykin N. V., Cherdantseva E. V., Matern A. I. Quantitative determination of B vitamins in the presence of molecular spectroscopy in the UV and visible regions. *Butlerov Communications*, 2012, vol. 31, no. 7, pp. 33–37 (in Russian).
27. Xiao X., Hou Y., Du J., Sun D., Bai G., Luo G. Determination of vitamins B2, B3, B6 and B7 in corn steep liquor by NIR and PLSR. *Trans. Tianjin Univ.*, 2012, vol. 18, pp. 372–377. <https://doi.org/10.1007/s12209-012-1932-1>
28. Sturova I. V., Komarova N. V., Strashilina N. Yu., Kalach A. V. Determination of vitamin B1 in vegetable premixes by zone capillary electrophoresis and fluorimetry. *Chemistry of Plant Raw Materials*, 2007, no. 4, pp. 121–122 (in Russian).
29. Morzunova T. G. Capillary electrophoresis in pharmaceutical analysis (a review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2006, vol. 40, no. 3, pp. 158–170 (in Russian).
30. Da Silva D. C., Visentainer J. V., de Souza N. E., Oliveira C. C. Micellar electrokinetic chromatography method for determination of the ten water-soluble vitamins in food supplements. *Food Anal. Methods*, 2013, vol. 6, pp. 1592–1606. <https://doi.org/10.1007/s12161-013-9576-x>
31. Yin C., Cao Y., Ding S., Wang Y. Rapid determination of water- and fat-soluble vitamins with microemulsion electrokinetic chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2008, vol. 1193, pp. 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.04.016>
32. Aurora-Prado M. S., Silva C. A., Tavares M. F. M., Altria K. D. Rapid determination of water-soluble and fat-soluble vitamins in commercial formulations by MEEKC. *Chromatographia*, 2010, vol. 72, pp. 687–694. <https://doi.org/10.1365/s10337-010-1704-9>
33. Liu Q., Jia L., Hu C. On-Line concentration methods for analysis of fat-soluble vitamins by MEKC. *Chromatographia*, 2010, vol. 72, pp. 95–100. <https://doi.org/10.1365/s10337-010-1608-8>
34. Kartsova L. A., Koroleva O. A. Simultaneous determination of water- and fat-soluble vitamins by high-performance thin-layer chromatography using an aqueous micellar mobile phase. *J. Anal. Chem.*, 2007, vol. 62, no. 3, pp. 255–259 (in Russian).
35. Panahi H. A., Kalal H. S., Rahimi A., Moniri E. Isolation and quantitative analysis of B₁, B₂, B₆ and B₁₂ vitamins using high-performance thin-layer chromatography. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2011, vol. 45, no. 2, pp. 125–129. <https://doi.org/10.1007/s11094-011-0574-2>
36. Cimpoiu C., Casoni D., Hosu A., Miclaus V., Hodisan T., Damian G. Separation and identification of eight hydrophilic vitamins using a new TLC method and raman spectroscopy. *J. Liquid Chromatography and Related Technologies*, 2005, vol. 28, no. 16, pp. 2561–2569. <https://doi.org/10.1080/10826070500189737>
37. Elzanfaly E. S., Nebsen M., Ramadan N. K. Development and validation of PCR, PLS, and TLC densitometric methods for the simultaneous determination of vitamins B(1), B(6) and B(12) in pharmaceutical formulations. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2010, vol. 23, no. 4, pp. 409–415.
38. OFS.1.3.0003.15 Buffer solutions. In: *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. 13th edition, 2015 (in Russian).
39. Kartsova L. A., Khmel'nitsky I. K., Pechenko T. V., Alekseeva A. V., Berezkin V. G. Simultaneous determination of water- and fat-soluble vitamins in different modes of high-performance thin-layer chromatography. *Sorption and Chromatographic Processes*, 2007, vol. 7, iss. 6, pp. 909–917 (in Russian).
40. Sumina E. G., Shtykov S. N., Tyurina N. V. *Tonkosloynaya khromatografiya. Teoreticheskiye osnovy i prakticheskoye primeneniye: uchebnoye posobiye dlya studentov, obuchayushchikhsya po spetsial'nosti 011000 «Khimiya»* [Thin layer chromatography. Theoretical foundations and practical application: A textbook for students studying in the specialty 011000 “Chemistry”]. Saratov, Saratov State University Publ., 2006. 110 p. (in Russian).
41. Savin S. B., Chernova R. K., Shtykov S. N. *Poverkhnostno-aktivnyye veshchestva. Analiticheskiye reagenty* [Surfactants. Analytical reagents]. Moscow, Nauka, 1991. 250 p. (in Russian).
42. Armstrong D. W., Terril R. Q. Thin layer chromatography separation of pesticides, Decachlorobiphenyl and nucleosides with micellar solution. *J. Anal. Chem.*, 1979, vol. 51, no. 13, pp. 2160–2164. <https://doi.org/10.1021/ac50049a025>
43. Armstrong D. W., McNeely M. Use of micelles in the TLC separation of polynuclear aromatic compounds and amino acids. *Analytical Letters*, 1979, vol. 12, no. 12, pp. 1285–1291. <https://doi.org/10.1080/00032717908067919>
44. Armstrong D. W., Bui K. H., Barry R. M. Use of pseudophase TLC in teaching laboratories. *Journal of Chemical Education*, 1984, vol. 61, no. 5, pp. 457. <https://doi.org/10.1021/ed061p457>
45. Shtykov S. N. Chemical analysis in nanoreactors: Main concepts and applications. *J. Anal. Chem.*, 2002, vol. 57, no. 10, pp. 859–868 (in Russian).
46. Pramauro E., Pelizzetti E. *Surfactants in Analytical Chemistry. Application of Organized Amphiphilic Media*. Elsevier, 1996. 521 p.
47. Sumina E. G., Shtykov S. N., Tyurina N. V. Surfactants in thin layer chromatography. *J. Anal. Chem.*, 2003, vol. 58, no. 8, pp. 720–730 (in Russian). <https://doi.org/10.1023/A:102527409149>
48. Shtykov S. N., Sumina E. G., Tyurina N. V. Calculation of partition coefficients of organic reagents in micellar thin-layer chromatography. *J. Anal. Chem.*, 2002, vol. 57, no. 4, pp. 322–325 (in Russian). <https://doi.org/10.1023/A:1014950314681>

Поступила в редакцию 16.06.2023; одобрена после рецензирования 29.06.2023; принята к публикации 30.06.2023
 The article was submitted 16.06.2023; approved after reviewing 29.06.2023; accepted for publication 30.06.2023